

ハンドドライヤーの送風中の薬剤耐性因子の調査

安川 洋生*

(2020年2月21日受理)

Hiro YASUKAWA

Antibiotic Resistance Determinants in Hand Dryer Air.

要 旨

薬剤耐性菌対策は喫緊の課題であり、「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」では、取り組みの一つとして中学生と高校生を対象に「感染症対策及び医薬品を正しく使用することの必要性に関する教育を推進」することが挙げられている。そのため教員を志す教育学部生には適切に生徒を指導できるように正しい知識を持つことが望まれる。薬剤耐性菌が生活環境中にも存在することを理解させるために、岩手大学教育学部に設置されているハンドドライヤーの送風に含まれる細菌の調査を行った。設置されている装置のうち10台について調査を行ったところ、9台から抗菌薬に耐性を示す微生物がみとめられた。それらの一部について遺伝子解析を行ったところ、複数種の薬剤耐性因子が検出された。

1 緒言

薬剤耐性菌に起因する死亡者数は年々増加しており、英国の薬剤耐性レビュー委員会（O'Neill Commission）によると、このまま何も対策を講じなければ、薬剤耐性菌による死亡者は2050年には1000万人にもものぼると試算されている。こうした危機的状況に対して世界規模で対策が執られている。2015年に開催された世界保健総会において「薬剤耐性対策グローバル・アクションプラン」が決定され、これを受けて日本では2016年に「国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚会議」において「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」が決定された。このプランでは達成すべき目標（目標1から目標6）を記述しており、その中では「国民の薬剤耐性に関する知識や理解を深め、専門職等への教育・研修を推進する」ことを掲げている。また、この目標を達成するための具体的な取組み

として、中学校の生徒、及び高校の生徒を対象に「感染症対策及び医薬品を正しく使用することの必要性に関する教育を推進」することを挙げている。そのため教員を志す教育学部生には適切に生徒を指導できるように「薬剤耐性菌・薬剤耐性因子」や「感染症対策及び医薬品を正しく使用すること」に関する正しい知識を持つことが望まれる。

そこで筆者は、教育学部生が薬剤耐性菌についてどの程度認識しているのかを知るために、岩手大学教育学部生を対象にアンケート調査を実施した。また、学生たちに薬剤耐性菌を身近な問題として認識してもらうために、日常的に使用するハンドドライヤーに注目し、その送風からどの程度の薬剤耐性因子が検出されるのかを調査した。ハンドドライヤーに関しては、その送風中に細菌がどの程度含まれるかを、筆者は2015年度に調査し報告した（笹川&安川, 2015）。ハンドドライヤー

*岩手大学教授

は室内の空気を送風口から噴出して手指を乾燥させており、装置に除菌や滅菌の機能がなければ室内に浮遊する細菌も風とともに噴出している。学部内に設置されているハンドドライヤーのうち2社の製品について2台ずつ（計4台）、送風口の下に標準寒天培地を配置し10秒間の曝露の後、培養し、発育した細菌のコロニー数を計数した（薬剤耐性菌と感受性菌を区別することなく計数した）。調査は平成27年度の4月中旬、7月中旬、10月中旬、1月中旬に行い、その結果、いずれの装置においても、いずれの調査日においても複数種の細菌が検出された（ただし、健康な大学生に対して直ちに健康被害を及ぼすものではない）。検出された様々な菌種の中には薬剤耐性を示す細菌が含まれていたと思われる。

本稿では、2018年度の夏期と冬期にハンドドライヤーの送風からサンプリングした試料について薬剤耐性因子の調査をした結果を報告する。なお、本稿には別途報告済みの調査結果（八重樫、他、2019）も含めて記載する。

2 材料と方法

2-1 学生の意識調査

岩手大学教育学部で通年開講されている「小学校理科A・B」の受講生を対象に、2018年度後期、2019年度前期、及び2019年度後期に無記名のアンケート調査を実施した。

2-2 薬剤耐性菌の検出

岩手大学教育学部に設置されているハンドドライヤーのうちの10台（M社製6台、及びT社製4台）を調査対象とした。これらについて、下記の手順(1)~(6)に従って、サンプリング、培養、回収を行った。

- (1) プラスチック手袋を両手に着用し、その状態で手袋表面をエタノール洗浄液で洗浄した。
- (2) 手袋を着用した状態で両手をハンドドライヤーの送風に10秒間曝露した。
- (3) 手袋を裏返ししながら取り外し、左右の手袋にSCD培養液を30mLずつ注ぎ入れ混和し、全量

を滅菌済みのビーカーに回収して培養した。

- (4) 滅菌済みの5個の三角フラスコにSCD培養液を10mLずつ入れ、そこに(3)で培養した試料を10 μ Lずつ添加した。
- (5) 5個の三角フラスコの4個にはアンピシリン、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、またはリファンピシンのいずれかを添加した（いずれも終濃度12.5 μ g/mL）。1個については対照として抗菌薬を加えなかった。
- (6) すべての三角フラスコを振盪培養した後、培養結果を記録し、増殖のみとめられた試料について遠心分離により微生物を回収した。

2-3 DNA試料の調製

上記の培養によりアンピシリンを含む培養液で増殖がみとめられた試料とテトラサイクリンを含む培養液で増殖がみとめられた試料について、微生物試料をカネカ簡易DNA抽出キット version 2（カネカ）を用いて溶解しDNA試料を調製した。このDNA溶液の一部を滅菌水にて10³~10⁴倍に希釈しPCRに供した。

2-4 DNAの解析

TaKaRa Bacterial 16S rDNA PCR Kit（Takara Bio）を用いて、細菌に特異的な16S rDNAの検出を行った。反応はメーカーの推奨する条件に準じて行った。

アンピシリンを含む培養液で増殖がみとめられた試料について、シカジーニアス AmpC 遺伝子型検出キット（関東化学）を用いて、AmpC型 β -ラクタマーゼの遺伝子ファミリー（*bla*_{ACT}, *bla*_{FOX}, *bla*_{CIT}, *bla*_{MOX}, *bla*_{ACC}, *bla*_{DHA}）の検出を行った。反応はメーカーの推奨する条件に準じて行った。

テトラサイクリンを含む培養液で増殖がみとめられた試料について、KOD One PCR Master Mix（TOYOBO）を用いて *tet* 遺伝子（*tet*(A), *tet*(B), *tet*(C), *tet*(D), *tet*(E), *tet*(G), *tet*(H), *tet*(J), *tet*(K), *tet*(L), *tet*(M), *tet*(O), *tet*(S), *tet*(P), *tet*(Q), *tet*(X)）の検出を行った。検出のための

Table 1. Cell growth and antibiotic resistance determinants.

| No. | Drug (12.5mcg/mL) | | | | | Antibiotic resistance determinant | | | | |
|-----|-------------------|------|----|----|-----|-----------------------------------|--------------------------|----------------|----------------|----------------|
| | - | ABPC | TC | SM | RFP | | | | | |
| 1 | + | + | + | + | | <i>bla_{ACT}</i> | <i>tet</i> (K) | | | |
| 2 | + | | | + | | | | | | |
| 3 | + | | | + | | | | | | |
| 4 | + | + | + | + | | <i>bla_{ACT}</i> | <i>tet</i> (K) | | | |
| 5 | + | | + | + | | | <i>tet</i> (K) | | | |
| 6 | + | | | + | | | | | | |
| 7 | + | | + | + | | | <i>tet</i> (K) | <i>tet</i> (M) | | |
| 8 | + | + | + | + | + | <i>bla_{ACT}</i> | <i>bla_{FOX}</i> | <i>tet</i> (K) | <i>tet</i> (M) | <i>tet</i> (S) |
| 9 | + | + | | | | <i>bla_{ACT}</i> | | | | |
| 10 | + | | | | | | | | | |

ABPC: Ampicillin, TC: Tetracycline, SM: Streptomycin, RFP: Rifampicin

プライマーは、*tet*(X) の検出には下記の塩基配列のプライマーを使用し、その他についてはNg等の論文とFan等の論文に記載の通りとした(Ng, *et al.*,2001; Fan, *et al.*, 2007).

5' -CCAATGGGTGTAAATATTGCTGAT

5' -GTTTCTTCAACTTCCGTGTCGGTAAC

PCRの条件はこれらの論文に記載の条件に準じた。

3 結果と考察

3-1 アンケートの結果

受講生（150名）には小学校教員志望学生，中学校教員志望学生，高校教員志望学生，進路未定学生が含まれていたが，志望による区別をすることなく全員にアンケートを実施した。「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」では中学生と高校生を対象とした教育の推進を挙げているため，中学校教員志望学生と高校教員志望学生に限定してアンケートを実施することが直截的であるように思えたが，志望の変遷もあり得るためまずはなるべく多くの学生の現状を把握し今後の教育指導の資料としたいと考え，敢えて全受講生を対象とした。アンケートに回答した学生は150名であった。

受講生に「薬剤耐性菌という言葉を知っていますか？」と質問したところ「はい」と回答した学生は23名（15.3%）であった。また「薬

剤耐性菌が喫緊の課題であることを知っていますか？」と質問したところ、「はい」と回答した学生は6名（4.0%）であった。このように薬剤耐性菌について認識をしている教育学部生は少ないことが分かった。

3-2 耐性因子の検出結果

調査結果のサマリーをTable 1に示す。調査した10台のハンドドライヤーの内の9台について，抗菌薬を含む培養液で微生物の増殖がみとめられた。微生物を回収しDNAを抽出してPCRにより薬剤耐性因子を解析したところ，いくつかの試料から *bla_{ACT}*，*bla_{FOX}*，*tet*(K)，*tet*(M)，*tet*(S) が検出された。

なお，増殖がみとめられない場合でも，それをもって直ちに「薬剤耐性菌がいなかった」とは判断できない。薬剤耐性菌は存在したが，本調査での培養液組成や培養条件が増殖に適していなかったため検出できなかったという可能性が否定できない。この点も踏まえ，今後は培養を経ずに採取した試料から直接DNAを抽出し（その後，必要なら全ゲノム増幅をして）PCRにて薬剤耐性因子の検出を行うことも検討している。

本調査により私たちの生活環境中に薬剤耐性菌が存在することが示された。薬剤耐性問題の啓蒙や教育に活用できる資料が得られつつあると思わ

れる。ただし、資料の提示や提供の際には、生活環境中の薬剤耐性菌が直ちに健康被害を及ぼすものではない旨の情報も正しく伝えることが必要である。

これまでの「抗菌薬と薬剤耐性菌のいたちごっこ」を打開するために、普及・啓発活動を推進し、薬剤耐性菌に関する正しい知識や、抗菌薬の適切な服用を、より多くの人々に周知することが重要であると考え。そのためには教育現場においても、薬剤耐性菌を増やさないという意識を生徒、保護者、教職員で共有し醸成することが重要であろう。

謝辞

本研究は岩手大学技術部の岡田菜月氏と福士祥代氏の協力により行われた。本研究は科学研究費基盤C（一般）「生活環境中における薬剤耐性菌の調査と解析」（課題番号18K022350001）により行われた。

参考文献等

Ng,L.-K., Martin,I., Alfa,M., Mulvey,M. (2001) Multiplex PCR for the detection of tetracycline resistant genes. *Molecular and Cellular Probes*, vol15, pp209-215.

Fan,W., Hamilton,T., Webster-Sesay,S., Nikoloch,M.P., Lindler,L.E. (2007) Multiplex real-time SYBR Green I PCR assay for detection of tetracycline efflux genes of Gram-negative bacteria. *Molecular and Cellular Probes*, vol21, pp245-256.

笹川洸, 安川洋生 (2017) 岩手大学教育学部の学生を対象とした手指衛生に関する予備調査. *岩手大学教育実践総合センター研究紀要*, vol16, pp117-124.

八重樫理称, 岡田菜月, 梶原昌五, 熊谷聡子, 田沼萌, 吹上菜穂, 福士祥代, 藤崎聡美, 星勝徳, 水戸部祐子, 安川洋生 (2019) 薬剤耐性菌に

関する教育に向けて-ハンドドライヤーの送風から検出される薬剤耐性菌の調査. *日本科学教育学会研究会研究報告*. vol34, pp23-26.

薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン. *National Action Plan on Antimicrobial Resistance*. 2016-2020. 国際的に脅威となる感染症対策関係閣僚 (平成28年4月5日).